

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS, DIAGNÓSTICO E
CONTROLE DA INFECÇÃO POR *Trypanosoma vivax* EM
REBANHO BOVINO NO ESTADO DO MARANHÃO**

Hélio Domingos Pereira

Médico Veterinário

2017

Areia - PB

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Aspectos clínico-epidemiológicos, diagnóstico e controle da infecção por
Trypanosoma vivax em rebanho bovino no estado do Maranhão

Hélio Domingos Pereira

Orientadora: Prof^a. Dra. Sara Vilar Dantas Simões

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2017

Areia - PB

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

HÉLIO DOMINGOS PEREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

AVALIAÇÃO EM 20/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Sara Vilar Dantas Simões
Departamento de Ciências Veterinárias - UFPB
(Orientadora)

Prof^o. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena
Departamento de Ciências Veterinárias - UFPB
(Examinador)

Prof^o. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária - UFCG
(Examinador)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HÉLIO DOMINGOS PEREIRA – Nascido em Araruna, Paraíba, em 03 de março de 1990. Técnico Agrícola formado pela Universidade Federal da Paraíba e Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Campina Grande, campus Patos.

DEDICATÓRIA

Dedico a DEUS este trabalho, pois é através Dele que consigo forças para alcançar meus objetivos. Aos meus pais por todo amor, carinho e ensinamentos, proporcionados a mim e a minha educação.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Sara Vilar Dantas Simões pela sua paciência, orientação, auxílio, conselhos, ensinamentos, muito obrigado por tudo!

A Karla Malta pelo apoio durante os atendimentos, sempre me orientando da melhor forma no hospital veterinário da UFPB, Areia.

Aos meus amigos do mestrado, Paulo, Diego, Eduardo, Felipe, Priscila, Lorena e Fátima.

Ao professor Dr. Francisco Leite que me auxiliou durante as coletas no Maranhão e a professora Dra. Júlia Silveira (UFMG) que realizou a sorologia dos animais e pelo acolhimento no Laboratório de Parasitologia.

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPB.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado.

A Roberto Dantas Vilar e Darlene Fernandes T. Dantas, que abriram as portas da sua propriedade no Maranhão, pelo acolhimento, e aos funcionários da propriedade pelo auxílio durante o período.

Aos meus amigos de Residência em Areia, Fernando, Flávio e Magno pela cumplicidade e auxílio durante esse período.

A minha namorada Angelina Santana pelo apoio durante o mestrado, sempre ao meu lado incentivando, apoiando nos momentos difíceis.

A minha família pelo apoio, confiança, ajuda, por tudo que fizeram durante toda minha vida.

Aos meus sobrinhos Maria Luiza e Heitor por tornar meus dias mais alegres.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	
RESUMO GERAL.....	
ABSTRACT.....	
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	01
CAPÍTULO 1. ASPECTOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS, DIAGNÓSTICO E CONTROLE DA INFECÇÃO POR <i>Trypanosoma</i> <i>vivax</i> EM REBANHO BOVINO NO ESTADO DO MARANHÃO.....	07
ABSTRACT.....	08
RESUMO.....	09
INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	12
DISCUSSÃO.....	16
CONCLUSÕES.....	20
REFERÊNCIAS.....	20
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

LISTA DE TABELA

	Página
TABELA 1: Resultados dos testes sorológicos para avaliação de anticorpos em bovinos contra tripanossomíase, leptospirose e neosporose em propriedade no Município de Timon - Maranhão.....	15

Aspectos clínico-epidemiológicos, diagnóstico e controle da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão

RESUMO GERAL: No estado do Maranhão a bovinocultura exerce forte papel na economia da região e encontra-se em crescente expansão, porém em propriedades no município de Timon há relatos que alguns animais apresentam sinais clínicos sugestivos de tripanossomíase. O objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência de tripanossomíase em uma propriedade leiteira no município de Timon, estado do Maranhão. O proprietário relatava histórico de abortos, nascimentos de crias fracas e mortalidade de animais adultos com perda progressiva de peso. Foram realizadas visitas à propriedade para obtenção do histórico, exame dos animais e coleta de sangue para realização do teste de Woo, hemogramas, testes sorológicos para pesquisa de anticorpos contra tripanossomíase, leptospirose, e neosporose e PCR para diagnóstico molecular de *T. vivax*. A identificação de animais com baixos valores no hematócrito foi a principal alteração hematológica identificada no rebanho. Dois animais foram positivos no teste de Woo, sendo visualizados tripanossomas em esfregaços sanguíneos, confirmados por meio de diagnóstico molecular como sendo *T. vivax*. Identificou-se que 95,23% (40/42) dos animais com hematócrito baixo foram sorologicamente positivos para *T. vivax*. As condições identificadas na propriedade, como ambiente propício aos vetores mecânicos, a presença de animais silvestres e a introdução de animais de estados onde já haviam sido registrados surtos de tripanossomíase provavelmente estiveram associadas à introdução e disseminação do agente no rebanho. A ocorrência de abortos sem a manifestação dos demais sinais clínicos da tripanossomíase sugere que esses poderiam também estar associados a outras doenças, como a leptospirose, pois altos títulos foram identificados nos animais testados. O elevado número de animais sorologicamente positivos para tripanossomíase 82,51% (151/183) demonstra que praticamente todo o rebanho teve contato com o agente. O bom estado nutricional dos animais e a adoção no rebanho de medidas sanitárias adequadas provavelmente asseguraram uma resposta imunológica eficiente no momento do contato inicial dos animais com o agente, evitando altas taxas de morbidade e mortalidade. O rápido estabelecimento das medidas de controle, entre elas a utilização das drogas tripanocidas, contribuiu para o controle do surto. Após o início da utilização das drogas não ocorreram mais óbitos e foi observada significativa melhora nos animais com sintomas da enfermidade. Apesar da dificuldade de contabilizar os prejuízos advindos das enfermidades diagnosticadas, observou-se que esses foram muito expressivos. O estudo permitiu comprovar a ocorrência do primeiro surto de *Trypanosoma vivax* no estado do Maranhão, Brasil. A condição ambiental identificada na propriedade, associada à intensificação da criação, foi favorável a ocorrência da tripanossomíase e acarretou graves perdas produtivas. O diagnóstico clínico da enfermidade foi dificultado pela semelhança dos sinais clínicos com outras enfermidades e pela possibilidade da associação de duas ou mais doenças no mesmo paciente, o que ressalta a importância do estabelecimento de medidas diagnósticas adequadas como forma de evitar a disseminação da enfermidade e minimizar as perdas econômicas dos produtores.

Palavras chaves: hemoparasitas, *Trypanosoma vivax*, ruminantes.

Clinical-epidemiological aspects, diagnosis and control of *Trypanosoma vivax* infection in bovine herds in the state of Maranhão

ABSTRACT: In the state of Maranhão, breeding cattle is important in the region's economy and is growing, but in properties in the municipality of Timon there are reports that some animals present clinical signs suggestive of trypanosomiasis. The objective of this study was to investigate the occurrence of trypanosomiasis in a dairy farm in this municipality Of Timon, state of Maranhão. The owner reported abortus, births of weak calves, and mortality of adult animals with progressive weight loss. Visits to the property were carried out to obtain the history, realize animal examination and blood collection for the Woo test, hemograms, serological tests for trypanosomiasis, leptospirosis, and neosporosis and PCR for molecular diagnosis of *T. vivax*. The identification of animals with low values in the hematocrit was the main hematological alteration identified in the herd. Two animals were positive in the Woo test, and trypanosomes were visualized in blood smears, confirmed by molecular diagnosis as *T. vivax*. It was identified that 95.23% (40/42) of the animals with low hematocrit were serologically positive for *T. vivax*. The conditions identified in the property as an environment propitious to mechanical vectors, the presence of wild animals and the introduction of animals from states where trypanosomiasis outbreaks had already been reported were probably associated with the introduction and dissemination of the agent in the herd. The occurrence of abortions without the manifestation of other clinical signs of trypanosomiasis suggests that these could also be associated with other diseases, such as leptospirosis, since high titers were identified in the animals tested. The high number of serologically positive animals for trypanosomiasis 82.51% (151/183) shows that almost all the herd had contact with the agent. The good nutritional status of the animals and the adoption in the herd of adequate sanitary measures probably ensured an efficient immune response at the time of initial contact of the animals with the agent, avoiding high rates of morbidity and mortality. The rapid establishment of control measures, including the use of trypanocidal drugs, contributed to the control of the outbreak. No more deaths and significant improvement was observed in the animals with symptoms of the disease. Despite the difficulty in accounting for the damages resulting from the diseases, it was observed that these were very expressive. The study allowed verifying the occurrence of the first outbreak of *Trypanosoma vivax* in the state of Maranhão, Brazil. The environmental condition identified in the property, associated with the intensification of animal husbandry practices, favored the occurrence of the trypanosomiasis and caused serious productive losses. The clinical diagnosis of the disease was difficult by the similarity of the clinical signs of trypanosomiasis with other diseases and the possibility of association of two or more diseases in the same patient, which emphasizes the importance of establishing adequate diagnostic measures as a way to avoid the dissemination of the disease and to minimize the economic losses of the producers.

Keywords: hemoparasites, *Trypanosoma vivax*, ruminantes.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A bovinocultura é uma das principais atividades do agronegócio brasileiro, gerando a maior renda entre as cinco principais cadeias produtivas agropecuárias estudadas (CNA, 2012). Um efetivo de 215,2 milhões de cabeças é identificado no território nacional levando o Brasil a ocupar o primeiro lugar em exportações de carne bovina (MAPA, 2015). Em virtude da crescente necessidade por proteína de origem animal na alimentação do ser humano e do crescente aumento da exportação de carne bovina pelo Brasil, avança em larga escala no estado do Maranhão a criação de ruminantes, em especial, a bovinocultura, atividade que exerce forte papel na economia da região. O estado do Maranhão possui um rebanho de mais de sete milhões de bovinos, com maior ênfase para a bovinocultura de corte, ocupando o segundo maior rebanho da região Nordeste, com crescimento constante e aumento de produção dos estabelecimentos rurais da região (IBGE, 2014).

De forma semelhante a outros estados brasileiros, no estado do Maranhão ocorrem problemas sanitários importantes nos rebanhos bovinos e perdas econômicas são identificadas em propriedades. Em uma propriedade no município de Timon há de animais com sinais sugestivos de tripanossomíase, o que demonstra a necessidade da realização de estudos para avaliar a ocorrência desta enfermidade na região.

Tripanossomíases são doenças provocadas por protozoários do gênero *Trypanosoma*, que têm distribuição cosmopolita e importância econômica na África em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé (BATISTA et al., 2008).

O *Trypanosoma vivax* é um protozoário eucariótico, flagelado, da ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidea*, subgênero *Duttonella*. As formas tripomastigotas encontradas no sangue de animais infectados apresentam cinetoplastos grandes, com conformação de meia lua, localizado na porção terminal, sendo sua posição um fator importante de identificação morfológica da espécie (SAMPAIO, 2014). Apresenta um flagelo livre e comprimento variando de 16µm a 26µm, apresentando forma lancetada com corpo alongado, achatado, extremidades afiladas e membrana ondulante reduzida. As formas epimastigotas possuem um flagelo livre e uma membrana ondulante que corre toda extensão do corpo (DE BRITO, 2011).

No continente africano, *T. vivax* causa a doença em várias espécies animais, dentre elas, equinos, bovinos, camelos e diversas espécies de ruminantes, no entanto, antílopes tem a capacidade de se infectar sem desenvolver a doença. Os cães, suínos, ratos e camundongos são refratários (SAMPAIO, 2014). Na África, o *Trypanosoma vivax* tem demonstrado caráter patogênico e importância epidemiológica em bovinos (SILVA et al., 2003). Em bovinos no oeste africano, o *Trypanosoma vivax* é considerado o mais patogênico e de maior interesse econômico, ocasionando restrições à produção de ruminantes (MARTINS et al., 2008).

No continente africano, nas áreas onde a *Glossina sp.* (mosca tsé-tsé) se encontra presente, *T. vivax* é transmitido ciclicamente, ocorrendo o desenvolvimento do protozoário na mosca. Em outras regiões da África e do mundo onde a tsé-tsé não é encontrada, a transmissão é realizada mecanicamente através de dípteros hematófagos como *Tabanus spp.* e *Stomoxys calcitrans* (PAIVA et al., 2000; SILVA et al., 2003; CADIOLI et al., 2012), ou por meio de fômites (SILVA et al., 1997). A adaptação à transmissão mecânica por insetos hematófagos permitiu a disseminação de *T. vivax* para a América Central, América do Sul e Caribe (SILVA et al., 2003). Nas Américas, o parasita se adaptou a transmissão mecânica através de insetos hematófagos da família Tabanidae e Muscidae. A transmissão mecânica realizada por tabanídeos entre bovinos é verificada quando ocorre o contato da mosca com animal altamente parasitado e o repasto sanguíneo é interrompido e seguido da alimentação em um período inferior a 10 minutos em outro animal saudável (PAIVA, 2009). Essa adaptação fez com que o *T. vivax* conseguisse se disseminar em áreas sem a presença do seu vetor biológico (JONES E DÁVILA, 2001). Além disso, pode ocorrer a transmissão de forma iatrogênica através de agulhas contaminadas, quando os produtores utilizam uma agulha para vários animais na aplicação de medicamentos ou vacinações (SILVA et al., 1997; JONES E DÁVILA, 2001; BATISTA et al., 2008).

Embora pouco investigada, é de importância epidemiológica a transmissão transplacentária do *T. vivax*. Essa forma de transmissão foi comprovada pela primeira vez por Losos e Ikede (1972), mediante a constatação de grande número de tripanossomos no sangue 4 horas após o nascimento de cordeiros filhos de ovelhas inoculadas experimentalmente com *T. vivax* no terço final da gestação, podendo estar associado com a ocorrência de abortos e natimortos (PAIVA, 2009).

Diversos animais selvagens atuam como reservatórios da infecção, assim como animais domésticos com infecção crônica. A abundância de moscas em locais com

presença de animais com infecção crônica é um fator de risco para a propagação da doença nos rebanhos (RADOSTITS et al., 2010).

A ocorrência de *T. vivax* no Brasil foi registrada em búfalos no estado do Pará, no ano de 1972 (LOSOS E IKEDE, 1972). Desde então a sua presença estava restrita a região norte do País, porém em 1995 o parasita foi identificado em bovinos durante um surto ocorrido na região de Poconé, Pantanal do Mato Grosso (SILVA et al., 1996). A movimentação de rebanhos infectados por *T. vivax* para áreas livres do agente e a habilidade do parasita em se adaptar a novos vetores, são descritos na literatura como fatores responsáveis pela ampla distribuição geográfica e rápida disseminação desse parasita entre os rebanhos (DE BRITO, 2011). Estudos sobre a ocorrência do parasita no Brasil vêm sendo conduzidos em sua grande maioria em áreas endêmicas, principalmente no Pantanal. Este possui grande potencial de distribuição do agente para outras áreas geográficas do Brasil, nas quais os vetores estão presentes (JONES e DÁVILA, 2001; MADRUGA et al., 2006).

A tripanossomíase causada por *T. vivax*, já foi relatada no Amapá (SERRA FREIRE, 1981), Mato Grosso do Sul (PAIVA et al., 1997), Tocantins (LINHARES et al., 2006) e Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008). O primeiro surto da infecção por *T. vivax* descrito em bovinos na região Nordeste ocorreu no município de Catolé do Rocha, sertão da Paraíba em 2002, onde se confirmou, através da infecção experimental em ovinos, a patogenicidade do isolado e os pesquisadores alertaram sobre a possibilidade de disseminação da enfermidade no sertão da Paraíba (BATISTA et al., 2007). Posteriormente, também no estado da Paraíba, foi relatado o primeiro surto de tripanossomíase em ovinos (GALIZA et al., 2011). No Estado do Pernambuco ocorreu a primeira descrição de um surto por *T. vivax* em bovinos (PIMENTEL et al., 2012).

A patogenia da tripanossomíase por *T. vivax* é influenciada por fatores inerentes ao hospedeiro, como susceptibilidade do animal, e por fatores relacionados ao parasita, como virulência da cepa inoculada. O resultado dessa interação tem influência sobre o curso da infecção (PAIVA, 2009). Podem ocorrer casos agudos que levam o animal a morte ou a enfermidade passar a uma fase subaguda e daí para a crônica. A doença pode ainda demonstrar caráter crônico desde o início da infecção (LINHARES et al., 2006).

Após inoculação, os tripanossomos são drenados para os nódulos linfáticos no local da picada e daí para o sangue (GARDINER et al., 1989). A rápida multiplicação por divisão binária da forma tripomastigota promove um gradual aumento de tripanossomas no sangue (JONES et al., 2000).

Quando a parasitemia alcança altos valores, seguem-se as manifestações clínicas da fase aguda, caracterizadas por anorexia, letargia, febre intermitente, anemia, imunossupressão e em algumas ocasiões, morte em menos de uma semana (JONES et al., 2000). Não há sintomas patognomônicos que possam auxiliar na realização de um diagnóstico preciso. Outros sinais observados em bovinos infectados com *T. vivax* incluem perda de apetite, fraqueza progressiva, letargia, lacrimejamento, ceratite, conjuntivite, diarreia, abortos, repetição de cio, emaciação e oftalmite (SILVA et al., 1995, 1996, 1997; BATISTA et al., 2008; CADIOLI et al., 2012). Alguns animais manifestaram sinais neurológicos caracterizados por incoordenação motora, tremores musculares, opistótono, cegueira, estrabismo lateral, hipermetria e morte (BATISTA et al., 2008; CADIOLI et al., 2012). Descarga nasal, icterícia, aumento de linfonodos e edema submandibular também são encontrados nos animais parasitados (CADIOLI et al., 2012). Petéquias, equimoses e diátese hemorrágica foram também descritas (GARDINER et al., 1989). Nos machos, as alterações causam a perda de libido, retardamento da puberdade e má qualidade do sêmen. Nas fêmeas podem ocorrer anestro temporário ou permanente, morte fetal, abortos no terço final da gestação, distocia, nascimento de crias fracas e morte neonatal, além de efeitos patogênicos no feto e no recém-nascido (SILVA et al., 2004; PIMENTEL et al., 2012). As infecções secundárias podem ocorrer, determinando casos mais graves e dificultando o diagnóstico (PAIVA et al., 2000).

Embora tendo demonstrado a capacidade de migrar nos tecidos do hospedeiro vertebrado, *T. vivax* desenvolve as etapas de seu ciclo biológico no sangue circulante, local onde encontra os elementos necessários a sua função vital. No transcorrer da enfermidade, este parasita pode provocar alterações no quadro hematológico, as quais são caracterizadas, principalmente, pela diminuição da contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito (PAIVA, 2009), sendo a anemia um dos parâmetros hematológico mais associado à enfermidade, podendo ser resultante da eritrofagocitose, hemólise intravascular imunomediada e em uma fase tardia, pela hematopoese inadequada (SALGADO et al., 2011; CADIOLI et al., 2012). A anemia, inicialmente é macrocítica, podendo tornar-se microcítica, acompanhada ou não de reticulocitose (SAMPAIO, 2014).

No diagnóstico da tripanossomíase devem ser levadas em consideração as alterações clínicas, dados epidemiológicos e métodos que associem sensibilidade e

especificidade (DE BRITO, 2011). Pode ser realizado com base em métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares (SILVA et al., 2002).

Dentre os métodos parasitológicos destacam-se os esfregaços sanguíneos corados (SILVA et al., 2002), aspirado de linfonodo (SILVA et al., 2002), técnicas de concentração em tubos de microhematócrito (WOO, 1970) que consiste na observação direta das formas sanguíneas reveladas em preparações coradas e examinadas através de microscopia óptica (LINHARES et al., 2006) e centrifugação em colunas de troca iônica (BUSCHER et al., 2009). Entretanto, todos esses métodos apresentam baixa sensibilidade, a qual apresenta variação em decorrência da parasitemia (SAMPAIO, 2014).

O diagnóstico de *T. vivax* pode ser baseado na análise morfológica de formas tripomastigotas em esfregaços de sangue, onde se observa características morfológicas, tais como, tamanho do corpo e da membrana ondulante e presença e localização do cinetoplasto na porção final da extremidade posterior, que permite distinguir das outras espécies de tripanossomas (DA SILVA et al., 2009).

Os métodos sorológicos empregados no diagnóstico da tripanossomíase são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio de imunoadsorção enzimático (ELISA) (SILVA et al., 2002) e teste de aglutinação em cartão (SAMPAIO, 2014). Os métodos sorológicos apresentam maior sensibilidade que os parasitológicos e por isso, de grande importância em investigações sorológicas. Esses métodos indicam contato com o parasito, mas não indicam se o animal apresenta infecção ou apenas teve contato prévio (SAMPAIO, 2014).

Métodos moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional e PCR em tempo real são ótimos indicadores da presença do DNA de *T. vivax* no sangue dos animais, embora não indique a gravidade da infecção, prognóstico e qual fase da infecção o hospedeiro se encontra, porém é um teste com alta especificidade (VENTURA et al., 2001). Este método consegue identificar a presença do parasita mesmo em pequenas quantidades no organismo, permitindo a identificação precoce e específica do parasita, obtendo-se o diagnóstico definitivo da infecção, além da possibilidade de caracterização genética de cepas (MAGONA et al., 2002).

As principais drogas utilizadas no tratamento da tripanossomíase no Brasil são o diaceturato de diminazene e o isometamidium, mas o comércio do isometamidium até recentemente era proibido no território brasileiro, sendo o diaceturato de diminazene a droga liberada para utilização no país.

Algumas drogas de efeito curativo apresentam ação profilática por conseguir manter alta concentração do princípio ativo nos tecidos e dessa forma não permite recidivas parasitológicas ou novas contaminações do animal (PEREGRINE, 1994). O isometamidium garante proteção por cerca de 3 a 6 meses, o que faz dessa droga tripanocida a mais utilizada com finalidade profilática e terapêutica (DE BRITO, 2011). Além do período prolongado da droga nos tecidos, a sua eficiência profilática depende da adaptação do parasita as drogas tripanocidas (PEREGRINE, 1994).

Objetivou-se com esse estudo investigar a ocorrência de tripanossomíase em rebanho bovino no município de Timon, estado do Maranhão, caracterizando os aspectos clínicos e epidemiológicos da enfermidade, além de instituir as medidas de controle, contribuindo com o conhecimento da enfermidade na região.

CAPÍTULO I

Aspectos clínico-epidemiológicos, diagnóstico e controle da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão

**Artigo enviado à Pesquisa
Veterinária Brasileira – ISSN
1678-5150.**

**Aspectos clínico-epidemiológicos, diagnóstico e controle da infecção por
Trypanosoma vivax em rebanho bovino no estado do Maranhão¹**

Hélio D. Pereira², Sara V. D. Simões^{2*}, Francisco de A. L. Souza³, Júlia A. G. da Silveira⁴, Múcio F. B. Ribeiro⁴, Fabiano A. Cadioli⁵, Paulo H. Sampaio⁵.

ABSTRACT. – Pereira, H.D., Simões, S.V.D., Souza, F. A. L., Silveira, J. A. G. da., Cadioli, F. A., Sampaio, P. H. 2017. [**Clinical-epidemiological aspects, diagnosis and control of *Trypanosoma vivax* infection in bovine herds in the state of Maranhão.**] Aspectos clínico-epidemiológicos, diagnóstico e controle da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão. Pesquisa Veterinária Brasileira. Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB 58.397.000, Brazil. E-mail: saravdsimoes@gmail.com

The objective of this study was to investigate the occurrence of trypanosomiasis in a dairy farm in municipality of Timon, State of Maranhão, Brazil. The owner reported abortus, births of weak calves, and mortality of adult animals with progressive weight loss. Visits to the property were carried out to obtain the history, realize animal examination and blood collection for the Woo test, hemograms, serological tests for trypanosomiasis, leptospirosis, and neosporosis and PCR for molecular diagnosis of *T. vivax*. The identification of animals with low values in the hematocrit was the main hematological alteration identified in the herd. Two animals were positive in the Woo test, and trypanosomes were visualized in blood smears, confirmed by molecular diagnosis as *T. vivax*. It was identified that 95.23% (40/42) of the animals with low hematocrit were serologically positive for *T. vivax*. The conditions identified in the property as an environment propitious to mechanical vectors, the presence of wild animals and the introduction of animals from states where trypanosomiasis outbreaks had already been reported were probably associated with the introduction and dissemination of the agent in the herd. The high number of serologically positive animals for trypanosomiasis 82.51% (151/183) shows that almost all the herd had contact with the agent. The rapid establishment of control measures, including the use of trypanocidal drugs, contributed to the control of the outbreak. The study allowed verify the occurrence of the first outbreak of trypanosomiasis in Maranhão, Brazil. The clinical diagnosis of the disease was difficult by the similarity of the clinical signs of trypanosomiasis with other diseases and the possibility of association of two or more diseases in the same patient, which emphasizes the importance of establishing adequate diagnostic measures as a way to avoid the dissemination of the disease and to minimize the economic losses of the producers.

INDEX TERMS: hemoparasites, *Trypanosoma vivax*, ruminants.

¹ Enviado em....

² Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus de Areia, PB 58397.000*Autor para correspondência: saravdsimoes@gmail.com

³ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil.

⁵ Departamento. Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Araçatuba, SP, Brasil.

⁵ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil.

RESUMO: - O objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência de tripanossomíase em uma propriedade leiteira no município de Timon no estado do Maranhão, Brasil. O proprietário relatava histórico de abortos, nascimentos de crias fracas e mortalidade de animais adultos com perda progressiva de peso. Foram realizadas visitas à propriedade para obtenção do histórico, exame dos animais e coleta de sangue para realização do teste de Woo, hemogramas, testes sorológicos para pesquisa de anticorpos contra tripanossomíase, leptospirose, e neosporose e PCR para diagnóstico molecular de *Trypanosoma vivax*. A identificação de animais com baixos valores no hematócrito foi a principal alteração hematológica identificada no rebanho. Dois animais foram positivos no teste de Woo, sendo visualizados tripanossomas em esfregaços sanguíneos, confirmados por meio de diagnóstico molecular como sendo *T. vivax*. Identificou-se que 95,23% (40/42) dos animais com hematócrito baixo foram sorologicamente positivos para *T. vivax*. As condições identificadas na propriedade, como ambiente propício aos vetores mecânicos, a presença de animais silvestres e a introdução de animais de estados onde já haviam sido registrados surtos de tripanossomíase provavelmente estiveram associadas à introdução e disseminação do agente no rebanho. O elevado número de animais sorologicamente positivos para tripanossomíase 82,51% (151/183) demonstra que praticamente todo o rebanho teve contato com o agente. O rápido estabelecimento das medidas de controle, entre elas a utilização das drogas tripanocidas, contribuiu para o controle do surto. O estudo permitiu comprovar a ocorrência do primeiro surto de tripanossomíase no Maranhão, Brasil. O diagnóstico clínico da enfermidade foi dificultado pela semelhança dos sinais clínicos com outras enfermidades e pela possibilidade da associação de duas ou mais doenças no mesmo paciente, o que ressalta a importância do estabelecimento de medidas diagnósticas adequadas como forma de evitar a disseminação da enfermidade e minimizar as perdas econômicas dos produtores.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: hemoparasitas, *Trypanosoma vivax*, ruminantes.

INTRODUÇÃO

Tripanossomíases são doenças provocadas por protozoários do gênero *Trypanosoma*, que têm distribuição cosmopolita e importância econômica na África, em áreas ocupadas pelo seu vetor biológico, a mosca tsé-tsé (BATISTA et al. 2008). A movimentação de animais infectados para áreas livres e a adaptação à transmissão mecânica por insetos hematófagos permitiu a disseminação de *T. vivax* para a América Central, América do Sul e Caribe (SILVA et al. 2003). Nos últimos anos, tem-se observado registros de surtos da enfermidade causada por *T. vivax* em diversos estados do Brasil, ocasionando mortes de animais e graves perdas econômicas, que vão desde perda de peso, abortos, problemas reprodutivos, redução da produção de carne e leite e custos com medicamentos, que influenciam diretamente a continuação e expansão da atividade pecuária. Os surtos ocorreram no Amapá (SERRA FREIRE 1981), Mato Grosso do Sul (PAIVA et al. 1997), Tocantins (LINHARES et al. 2006), e Minas Gerais (CARVALHO et al. 2008), Paraíba (BATISTA et al., 2008) e Pernambuco (PIMENTEL et al., 2012). Essa disseminação tem ocasionado preocupação, pois os pecuaristas por não terem conhecimento sobre a forma de transmissão da doença e tratamento adequado do rebanho, não realizam medidas de prevenção, confundindo muitas vezes os sinais da doença com outras enfermidades que acometem o rebanho da região e o comércio de animais de áreas com a presença da doença para áreas livres pode acelerar esse processo de transmissão.

A patogenia da tripanossomíase por *T. vivax* é influenciada por fatores inerentes ao hospedeiro, como susceptibilidade do animal, e por fatores relacionados ao parasita, ocasionando o aparecimento das manifestações clínicas da enfermidade (PAIVA, 2009). O diagnóstico deve ser realizado para instituir as medidas adequadas de controle e profilaxia nos rebanhos.

Objetivou-se com esse estudo investigar a ocorrência de morte de bovinos adultos e abortos em rebanho bovino no município de Timon, Maranhão, como também caracterizar os aspectos clínicos e epidemiológicos da Tripanossomíase e as medidas de controle instituídas, assim como contribuir com o conhecimento da enfermidade na região.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade leiteira situada no município de Timon, Maranhão, com área física de 250 hectares e rebanho constituído de 280 animais. O proprietário relatava histórico de morte de animais adultos, anemia, perda de peso progressiva, lacrimejamento, abortos e nascimentos de crias fracas.

No período do estudo foram realizadas três visitas à propriedade para obtenção de informações sobre o rebanho, histórico do problema, realização de exames clínicos, coleta de materiais para exames e discussão de estratégias de controle.

Na primeira visita realizou-se exame físico em seis vacas com sinais clínicos crônicos. Amostras de sangue de duas vacas que haviam abortado recentemente, de quatro bezerros com desenvolvimento inadequado e das seis vacas com sinais clínicos crônicos foram colhidas na veia marginal da orelha, em tubos de micro-hematócrito com heparina, e submetidas à centrifugação para observação direta do capilar ao microscópio óptico para pesquisa de tripanossomas (Técnica de Woo, 1970).

Em seguida foram realizados esfregaços de capa leucocitária, sendo as lâminas fixadas em metanol e coradas pelo método de Giemsa, sendo esses examinados ao microscópio óptico em imersão. Amostra de sangue de um dos bezerros com sintomatologia mais evidente foi colhida para realização de hemograma.

As amostras de sangue dos animais suspeitos no teste de Woo foram congeladas e encaminhadas para o laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Piauí para extração do DNA e realização de PCR, baseando-se na metodologia utilizada por Ventura et al. (2001), adaptado por Cuglovici et al. (2010). Nesta reação foram utilizados os primers TviSL1 e TviSL2 que amplificam 210 pares de base. Amostras também foram enviadas para o Laboratório de Imunoparasitologia Veterinária do Departamento de Patologia Veterinária da UNESP, Campus de Jaboticabal.

Ainda na ocasião da primeira visita, 75 amostras de sangue de vacas do rebanho foram colhidas, sendo 25 provenientes de animais que tinham abortado ou parido bezerros fracos, 25 de vacas prenhes sem qualquer manifestação clínica e 25 de animais que tinham parido normalmente. Foram solicitados para esses animais testes sorológicos para tripanossomíase (50 animais) leptospirose (45 animais) e neosporose (45 animais). Os testes para leptospirose e neosporose foram realizados no Instituto Biológico em São Paulo.

O método sorológico utilizado para a tripanossomíase foi à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando a metodologia descrita por Silveira (2012). Um total de 183 animais foi avaliado. O teste sorológico utilizado para detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* foi o ELISA utilizando kit IDEXX e para leptospirose foi a soroaglutinação microscópica de acordo com metodologia descrita por Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973).

As medidas de controle instituídas, após identificação do *T. vivax* no rebanho, foram o tratamento imediato dos animais com sinais clínicos com diaceturato de diminazene na dose de 7,0 mg/kg, tratamento posterior de todos os animais do rebanho com isometamidium na dose de 1,0 mg/kg, utilização de brincos inseticidas para controle das moscas e mutucas e controle da infestação por carrapatos de acordo com a metodologia proposta por Labruna et al. (2000).

Os animais foram tratados com isometamidium no momento da segunda visita a propriedade. Nessa ocasião optou-se por realizar também a coleta de sangue de todos os animais do rebanho para avaliação do hematócrito e coleta de soro, sendo encaminhadas mais 108 amostras para realização de testes sorológicos para tripanossomíase.

Na terceira visita à propriedade foram avaliadas as medidas de controle instituídas e realizada coleta de sangue dos animais identificados inicialmente com VG baixo para avaliar, de forma indireta, a eficácia das medidas de controle.

RESULTADOS

O rebanho era composto em sua maioria por animais provenientes do cruzamento de animais da raça Gir e Holandesa denominada Girolando, que apresenta boa adaptabilidade à região, apresentando índices de produtividade satisfatórios. O rebanho era composto por cerca de 280 animais de diversas categorias. A produção média de leite era em torno de 750 litros/dia, em duas ordenhas, sendo o regime de criação semi-intensivo.

A propriedade dispunha de piquetes irrigados o ano inteiro, o que garantia boa disponibilidade de forragem durante o ano. As vacas em lactação tinham acesso ao concentrado no momento da ordenha e recebiam complemento com cevada no cocho após a ordenha. As vacas secas e as novilhas eram criadas em piquetes com capim

Massai (*Megathyrus maximus*) e Andropogon (*Andropogon gayanus kunth*) e recebiam mineralização proteinada no cocho, durante todo o ano. Os bezerros eram criados em piquetes com capim Tifton (*Cynodon spp.*), recebendo mineralização e concentrado nesses locais. Em relação ao manejo reprodutivo era utilizada a monta controlada, apresentando índices de natalidade satisfatórios. A propriedade mantinha uma área de reserva legal de 55 hectares.

Um problema sanitário recorrente no rebanho era a alta infestação por carrapatos nos animais, que nos últimos meses vinha causando debilidade, perda de peso e diminuição dos índices produtivos. O controle da infestação era difícil de ser realizado, pois na região a alta temperatura, associada à elevada umidade nos pastos irrigados favoreciam a sobrevivência e disseminação dos parasitos. Outro problema encontrado era a alta infestação dos animais por moscas dos estábulos e mutucas, que se agravava mais nas épocas chuvosas, quando a quantidade de insetos aumentava significativamente.

A propriedade dispunha de uma lagoa com cerca de 1 km de comprimento e 4 metros de profundidade, localizada as margens dos piquetes. Na época chuvosa a lagoa aumentava a sua quantidade de águas, pois a propriedade localiza-se próximo ao rio Parnaíba e na época chuvosa as águas do rio se acumulam na lagoa. Devido à existência de uma área de reserva legal, eram visualizados na propriedade muitos animais silvestres, dentre eles capivaras, que tinham acesso direto a lagoa e aos piquetes dos animais. Na ocasião do surto foi visualizado um grande grupo de capivaras pastando próximo aos animais no pasto.

Em relação à utilização de vacinas eram realizadas vacinações para carbúnculo sintomático, brucelose, febre aftosa e raiva. Aplicações sistemáticas de vermífugos, inclusive nos animais adultos, também era uma prática realizada.

Inicialmente o rebanho era constituído de animais oriundos dos estados de Pernambuco e Minas Gerais. Com o passar dos anos, essa entrada de novos animais foi diminuindo, pois se deu início ao nascimento das crias dos animais que haviam sido adquiridos. O último lote de animais introduzido no plantel tinha sido há cerca de um ano, oriundo do estado de Pernambuco e de outras propriedades do Maranhão, totalizando 15 animais. Durante as visitas foi observado que houve a introdução de um reprodutor vindo do estado de Pernambuco.

Diversos cães habitavam as residências da propriedade, próximas aos currais e piquetes, tendo acesso aos mesmos. Foi informado também que os cães tinham acesso aos fetos abortados e placentas, que não eram devidamente descartadas.

O proprietário informou que no rebanho ocorriam abortos esporádicos, sendo registrados cinco casos em 2014, porém esses se intensificaram em 2015, sendo contabilizados 15 nos primeiros cinco meses do ano. No mesmo período que estavam ocorrendo os abortos foi observado que alguns animais apresentaram acentuada queda na produção de leite, perda de peso progressiva, inflamação das pálpebras, lacrimejamento e problemas reprodutivos (repetições de cio e um reprodutor com perda da libido), sendo registrados seis óbitos de animais adultos. O proprietário observou que esses sintomas não eram observados em todos os animais que abortavam, sendo o aborto muitas vezes a única alteração observada. Diversos medicamentos foram utilizados na tentativa de resolver o problema, incluindo antimicrobianos, imidocarb, diaceturato de diminazene, corticoides, antitóxicos e cálcio.

Os sinais clínicos identificados pelo proprietário nos animais que morreram foram cabeça baixa, salivação, secreção nasal mucosa abundante, membros rígidos e perda de peso. A morte ocorria entre um e 20 dias após o aparecimento dos sinais clínicos. Um animal apresentou urina escura, e outro após vários dias com os sinais clínicos apresentou sintomatologia nervosa (andar em círculos, andar a esmo e cegueira), vindo a morrer após manifestação desses sinais.

Seis animais que manifestaram sinais clínicos, mas que não morreram, e continuavam cronicamente doentes, apresentavam baixa condição corporal, pelos secos e soltando com facilidade, desidratação, mucosas pálidas, lacrimejamento bilateral e dois apresentavam febre.

Dos animais que tiveram amostras sanguíneas avaliadas pelo teste de Woo dois foram positivos, um bezerro e uma das vacas cronicamente doentes. Nesses dois animais foram também visualizados *Trypanosoma sp.* em esfregaços sanguíneos, confirmados, por meio de diagnóstico molecular, como sendo *T. vivax*. No hemograma do bezerro identificou-se hematócrito de 14%, valor abaixo do referenciado para a espécie (24 a 36%), anemia normocítica normocrômica, leucometria normal e presença de estruturas compatíveis com *T. vivax* e *Anaplasma marginale*.

Na avaliação dos hematócritos de todos os animais do rebanho identificou-se que 8,79% (24/273) estavam também com valor inferior aos referenciados para a espécie. Em nova avaliação do hematócrito, realizada 54 dias após a implantação das

medidas de controle, nos animais que apresentavam valores inferiores ou nos limites inferiores de normalidade, foi identificado que apenas um animal manteve o hematócrito baixo, inclusive com valor inferior ao apresentado na primeira avaliação.

Os resultados dos testes sorológicos para tripanossomíase, leptospirose e neosporose estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados dos testes sorológicos para avaliação de anticorpos contra bovinos para tripanossomíase, leptospirose e neosporose em propriedade no Município de Timon- Maranhão.

Grupos	Sorologia para Tripanossomíase		Sorologia para Leptospirose		Sorologia para Neosporose	
	Positivo	Negativo	Reagente	Não reagente	Reagente	Não reagente
Animais que abortaram	84% (21/25)	(16%) 4/25	(92%) 23/25	(8%) 2/25	(36%) 9/25	(64%) 16/25
Animais que pariram normalmente	(84%) 21/25	(16%) 4/25	(100%) 20/20	(%) 0/20	(20%) 4/20	(80%) 16/20
Demais animais do rebanho	81,95% (109/133)	18,05% (24/133)	—	—	—	—
Total	82,51% (151/183)	17,49% (32/183)	95,6% (43/45)	4,44% (2/45)	28,89% (13/45)	71,11 (32/45)

Nos testes sorológicos para leptospirose foram encontrados títulos para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Wolffi, Hardjo e Pomona. Os títulos variaram de 100 até 1600. Os sorovares de maior frequência foram Wolffi com 95,55% (43/45), Icterohaemorrhagiae com 62,22% (28/45), Hardjo com 44,44% (20/45) e Pomona com 6,66% (3/45).

Os testes sorológicos para tripanossomíase identificaram um alto percentual de animais infectados no rebanho e ao se avaliar esse resultado conjuntamente com os valores dos hematócritos observou-se 95,23% (40/42) dos animais com hematócrito baixo foram positivos para *T. vivax*. Além disso, 83,33% (5/6) dos animais considerados cronicamente doentes foram também sorologicamente positivos para *T. vivax*.

Após a utilização de duas doses de 7,0 mg/kg de diacetato de diminazene nos animais cronicamente enfermos foi observada melhora nos sinais clínicos. Após a aplicação do isometamidium, uso dos brinco inseticidas e estabelecimento de medidas de controle para os carrapatos a melhora no rebanho passou a ser mais evidente.

Após a aplicação do isometamidium durante algumas semanas não foi registrado nenhum aborto, porém a ocorrência de mais um aborto e os resultados dos exames

sorológicos para leptospirose levaram o proprietário a optar pela utilização da vacina contra leptospirose. Posteriormente, ainda no ano de 2015 não houve mais registro de abortos assim como durante todo o ano de 2016. O rebanho aumentou a produção e ganho de peso.

DISCUSSÃO

A obtenção do histórico do caso, os exames clínicos realizados, a visualização do agente no teste de Woo e identificação do *T. vivax* por meio de teste molecular comprovam a ocorrência do surto de tripanossomíase. Esse é o primeiro registro de surto no estado do Maranhão e demonstra, conforme já informado com preocupação por outros autores, que a enfermidade encontra-se em ampla disseminação no Brasil. Guerra et al. (2008) haviam registrado a ocorrência do parasito em um bezerro no município de Itapecuru-Mirim, localizado na região centro-oeste do estado.

A semelhança dos sinais clínicos com outras enfermidades, a exemplo da anaplasmose e babesiose, que cursam com sintomatologia semelhante, sugere que a tripanossomíase bovina pode também estar sendo subdiagnosticada no estado e também no Brasil. Essa situação é agravada pelo fato de que os medicamentos utilizados no tratamento da anaplasmose e babesiose terem alguma eficácia sobre os tripanossomas, o que leva a parcial recuperação do animal e os equívocos associados ao diagnóstico.

As condições identificadas na propriedade, como ambiente propício aos vetores e à introdução de animais dos estados de Minas Gerais e Pernambuco, onde já haviam sido registrados importantes surtos da enfermidade (CARVALHO et al., 2008; PIMENTEL et al., 2012) são aspectos que provavelmente estiveram associados à introdução e disseminação do agente no rebanho.

De Brito (2011) relata que a movimentação de animais infectados por *T. vivax* para áreas livres do agente é descrito como um fator responsável pela ampla distribuição geográfica e disseminação do parasita. A presença de um grande número de capivaras, já referenciada como um reservatório de tripanossoma (SILVA et al. 2002), também deve ser considerada como forma de entrada do agente no rebanho, pois as capivaras e os bovinos coabitavam os pastos, na presença de grande quantidade de tabanídeos.

No Brasil, a ocorrência de tripanossomíase em rebanhos leiteiros esteve muitas vezes associada ao uso indevido de agulhas na aplicação de medicamentos, a exemplo da ocitocina para facilitar a ejeção do leite no momento da ordenha de vacas mestiças (GRAÇA 2014). Porém, essa prática em nenhum momento foi utilizada no rebanho em questão, o que sugere e reforça a possibilidade das moscas e mutucas terem uma participação importante na transmissão. Em bovinos, o *T. vivax* determina parasitemia mais alta do que em outras espécies e favorece a transmissão mecânica (RADOSTITS et al. 2010). No entanto, não deve ser desconsiderada a prática da utilização de uma agulha em diversos animais nas vacinações e vermifugações na propriedade.

Os sinais clínicos descritos nos animais como salivação, secreção nasal mucosa, membros rígidos e perda de peso foram semelhantes aos já apresentados por outros autores durante relatos da enfermidade (SILVA et al. 1997, BATISTA et al. 2008, CADIOLI et al. 2012), inclusive a sintomatologia nervosa apresentada por um dos animais que está associada a presença do agente no tecido nervoso (BATISTA et al. 2007, 2008). A morte de animais com um curso clínico inferior a 48 horas e o relato de animais cronicamente doentes demonstra que a enfermidade se manifestou de forma aguda a crônica. Linhares et al. (2006) descreve que não há sintomas patognomônicos que possam auxiliar na realização de um diagnóstico preciso de *T. vivax*. Podem ocorrer casos agudos e levar o animal a morte ou passar a uma fase subaguda, para a crônica, ou a doença demonstrar caráter crônico desde o início da infecção.

A ocorrência de abortos sem a manifestação dos demais sinais clínicos da tripanossomíase, situação referenciada pelo proprietário, sugere que esses poderiam também estar associados a outras doenças, como a leptospirose, pois altos títulos foram identificados nos animais testados. A positividade desses mesmos animais nos testes sorológicos para tripanossomíase dificultou o diagnóstico dos casos de aborto. A presença do sorovar Hardjo na sorologia reforça a suspeita do envolvimento de leptospirosas nos abortos e está de acordo com a queixa do proprietário referente ao aborto ser o único sinal clínico apresentado por alguns animais. De acordo com Miashiro (2013) no caso de infecção com esse sorovar a doença se manifesta de forma crônica, tendo como principal manifestação clínica o aborto e nascimento de bezerros fracos.

A presença da lagoa nas áreas de pastejo deve ser considerada também como um fator de risco para a leptospirose, pela presença das capivaras, pois a transmissão da leptospirose pode ocorrer a partir da ingestão de água ou alimentos contaminados com urina de animais infectados. De acordo com Albuquerque et al. (2017) as capivaras

apresentam infecção crônica com baixos títulos e eliminação de bactérias por longo tempo e podem agir como reservatórios. Em trabalho recente Langoni et al. (2016) identificaram aglutininas anti-leptospiras em capivaras no Brasil e aponta para a necessidade de mais pesquisas para identificar a importância desses animais na transmissão da enfermidade para outros animais e o homem.

Apesar da possibilidade de abortos em bovinos estarem também associados à infecção com o *Neospora caninum*, nos rebanhos em que cães têm acesso a fetos abortados e restos placentários de animais possivelmente infectados (CORBELLINE et al. 2000), a identificação de apenas um animal, entre os que abortaram, ter reagido para *Neospora sp.* e ser sorologicamente negativo para leptospirose e tripanossomíase minimiza o risco dos abortos estarem associados a essa enfermidade.

O elevado número de animais sorologicamente positivos para tripanossomíase (82,51%) demonstra que praticamente todo o rebanho teve contato com o agente. No entanto, apesar do grande número de animais infectados observou-se que poucos animais manifestaram os sinais clínicos mais frequentemente associados à enfermidade. O bom estado nutricional dos animais e a adoção no rebanho de diversas medidas sanitárias provavelmente estiveram associados a uma resposta imunológica eficiente no momento do contato inicial do animal com o agente, o que permitiu que estes conseguissem controlar a infecção, evitando a instalação de infecções secundárias e combatendo as formas clínicas mais graves da tripanossomíase (SCHENK et al. 2001).

A alta infestação de carrapatos identificada no rebanho e o desconforto associado à presença de moscas e mutucas pode ter levado os animais a uma condição de estresse, capaz de reduzir as defesas do organismo, ocasionando o surgimento de sinais clínicos em alguns animais. Estudos demonstraram, mediante acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos bovinos infectados no estado de Mato Grosso, que diversos fatores influenciam para que a infecção cause danos aos animais, tais como, alimentação, formas de manejo, estresse e outras doenças que podem estar associadas à tripanossomíase, agravando o quadro clínico (PAIVA et al. 2000). Schenk et al. (2001) não induziu sinais clínicos ou alterações bioquímicas em bovinos inoculados com *T. vivax*, indicando que os animais são capazes de estabelecer equilíbrio na relação parasita-hospedeiro quando em estado nutricional favorável.

A visualização do agente em apenas dois animais no teste de Woo, mesmo que a sorologia tenha sido alta no rebanho para *T. vivax*, está associada ao fato da baixa sensibilidade deste teste. De acordo com Radostits et al. (2010) a observação direta deve

ser feita no estágio inicial da doença, quando o pico de parasitemia corresponde ao pico febril e é possível visualizar o agente. Dessa forma, esse teste deve ser associado ao teste molecular que apresenta elevada especificidade e consegue identificar a presença do parasita, mesmo que em pequena quantidade no organismo. Magona et al. (2002) destacam a importância da PCR como teste confirmatório, pois além de obter o diagnóstico definitivo, tem a função de caracterização morfológica e identificação da espécie envolvida na infecção.

A identificação de animais com baixos valores no hematócrito foi a principal alteração hematológica identificada no rebanho. Essa alteração também foi identificada por Linhares et al. (2006) em surto de tripanossomíase por *T. vivax* no Tocantins. Baixos valores de hematócrito podem ser resultantes da eritrofagocitose, hemólise intravascular imunomediada e em uma fase tardia, pela hematopoese inadequada (SALGADO et al. 2011).

O rápido estabelecimento das medidas de controle, entre elas a utilização das drogas tripanocidas, contribuiu para o controle do surto. Após o início da utilização das drogas não ocorreram mais óbitos e foi observada significativa melhora nos animais com sintomas da enfermidade. De acordo com Stephen (1986) em áreas onde a transmissão do *T. vivax* é realizada mecanicamente, o tratamento precoce nos períodos iniciais da doença, em que a parasitemia é sempre mais alta, provoca interrupção da transmissão mecânica por insetos, se este for o principal modo de transmissão.

Deve-se ressaltar também como medida profilática, importante na resolução dos problemas apresentados na propriedade a utilização das vacinas contra leptospirose, o que provavelmente foi determinante no controle dos abortos.

Apesar da dificuldade de contabilizar os prejuízos advindos das enfermidades diagnosticadas, pois esses envolvem mortes de animais, perda de material genético, redução da produção de leite e ganho de peso, infertilidade, ausência dos animais que abortaram nas linhas de ordenha e de suas crias para reposição do rebanho ou comercialização, altos custos das drogas tripanocidas e despesas com assistência técnica e exames laboratoriais, ficou evidente que esses foram muito expressivos. Dessa forma, é importante que ao serem detectadas as enfermidades, sejam precocemente adotadas nos rebanhos medidas adequadas de diagnóstico e controle como formas de reduzir as perdas econômicas.

CONCLUSÕES

O estudo permitiu comprovar a ocorrência do primeiro surto de tripanossomíase no Maranhão. A introdução de animais oriundos de estados com presença comprovada do *Trypanosoma vivax* nos rebanhos, a condição ambiental identificada na propriedade, associada à intensificação da criação favoreceu a ocorrência da tripanossomíase e acarretou graves perdas produtivas. A presença da leptospirose ocasionou abortos como único sinal clínico e problemas reprodutivos. O diagnóstico clínico da tripanossomíase foi dificultado pela semelhança com outras enfermidades presentes na região e possível associação de dois ou mais agentes patológicos no mesmo paciente, o que ressaltou a importância do estabelecimento das medidas diagnósticas adequadas como forma de evitar a disseminação da enfermidade.

REFERÊNCIAS

- Albuquerque N. F., Martins, G., Medeiros, L., Ribeiro, V. M. F. 2017. The role of capybaras as carriers of leptospires in periurban and rural áreas in the western Amazon. *Acta Tropica*.
- Batista J. S.; Riet-Correa, F., Teixeira, M. M. G., Madruga, C. R.; Simões, S. D. V., Maia, T. F. 2007. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Veterinary Parasitology*. 143:174-181.
- Batista J. S., Bezerra, F. S. B., Lira, R. A., Carvalho, J. R. G., Neto, A. M. R., Petri, A. A., Teixeira, M. M. G. 2008. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28: 63-69.

Cadioli F. A., Barnabé, P. de A., Machado, R. Z., Teixeira, M. C. A., André, M. R., Sampaio, P. H., Fídelis júnior, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. 2012. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2: 118-124.

Carvalho A. U., Abrão, D. C., Facury filho, E. J.; Paes, P. R. O.; Ribeiro, M. F. B. 2008. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 60: 769-771.

Corbellini L. G., Driemeier, D., Cruz, C., Dias, M. M. 2000. Aborto Bovino por *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, 30: 863-868.

De Brito P. D. 2011. Efeito da infecção por *Trypanosoma vivax* sobre a ingestão de alimentos, conversão alimentar, ganho de peso e características de carcaça de ovinos infectados experimentalmente. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN. 95p.

Graça D. S. Surto de Trypanossomose bovina em Minas Gerais. Artigo técnico. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

Guerra R. M. S. N. C., Feitosa junior, A. B., Santos, H. P., Abreu-Silva, A. L., Santos, A. C. G. 2008. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brasil. *Ciência Rural*. 38: 833-835.

Labruna M. B., Home, V. S. F., Heinemann, M. B., Neto, J. S. F. 2000. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Urará Eastern Amazon, Brazil. *Journal of Medical Entomology*. 37: 774-779.

Langoni H., Kuribara, I. Y., Correa, A. P. F.L., ullmann, L. S., Sánchez, G. P., Lucheis, S. B. 2016. Anti-leptospirosis agglutinins in Brazilian capybaras (*hydrochoerus hydrochaeris*). *Journal of Venomous Animals*, 22.

Linhares G. F. C., Filho, F. C. D., Fernandes, P. R. Duarte, S. C. 2006. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins: relato de caso. *Ciência Animal Brasileira*. 7: 455-460.

Magona J. W., Mayende, J. W., Walubengo, J. 2002. Comparative evaluation of the antibody-detection ELISA technique using microplates precoated with denatured crude antigens from *Trypanosoma congolense* of *Trypanosoma vivax*. *Tropical Animal Health Production*. 34: 295- 308.

Miashiro A. F. 2013. Prevalência de leptospirose em rebanhos bovinos no Pantanal do Mato Grosso do Sul. Dissertação de mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 52p.

Paiva F., Lemos, R. A., Oshiro, A. E., Salvador, S. C., Nakasato, L. 1997. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do estado de Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 6: 349.

Paiva E. de S. 2009. Tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em pequenos ruminantes: descrição de surtos e infecção experimental da doença. Dissertação de mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal do Semiárido, Mossoró, RN. 84p.

Paiva F., Lemos, R. A. A., Nakasato, L., Brum, K. B., Bernado, K. C., Madruga, C. R., SCHENK, M. A. 2000. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo. 9: 143-14.

Pimentel D. s., Ramos, C. A. N., Ramos, R. N. A., Araújo, F. R., Borba, M. L., Faustino, M. A. G., Alves, L. C. 2012. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brasil, *Veterinary Parasitology*, 185: 286-289.

Radostits O. M. et al. 2010. *Clínica Veterinária*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1194-1200.

Salgado B. S., battaglia, C. T., Stuchi, R. S., Cadioli, F. A., Rozza, D.B. 2011. What is your diagnosis? Lymphadenopathy in a cow with severe anemia. *Veterinary Clinical Pathology*. 40: 103-104.

Schenk M. A. M., Mendonça, C. L., Madruga, C. R., Kohayagawa, A., ARAÚJO, F. R. 2001. Avaliação clínico-laboratorial de bovinos nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 21: 157-161.

Serra-Freire N. M. 1981. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 4: 30-31.

Silva R. A. M. S., Silva, J. A., Freitas, J., Morales, G., Eulert, E.; Ybanes, R.; Montenegro, A., DÁVILA, A. M. R., Amirez, L. 1997. Tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax* no Brasil e Bolívia: Sintomas clínicos, diagnósticos e dados epizootiológicos. p. 17.

Silva R. A. M. S., Seidl, A., Ramirez, L., Davila, A. M. R. 2002. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, diagnostico e controle. Corumbá, EMBRAPA, p. 137.

Silva R. A. M. S., Sanchez, V., Dávila, A. M. R. 2003. Métodos de diagnósticos parasitológicos das tripanossomoses bovinas e equinas. Circular técnica 41, EMBRAPA Pantanal, Corumbá, Mato Grosso do Sul, p. 3.

Stephen L. E. Trypanosomiasis: a veterinary perspective. 1986. Pergamon Press, New York. 533p.

Woo, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. 1970. Acta Tropica. 27: 384-386.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tripanossomíase por *T. vivax* é uma doença importante em rebanhos bovinos, ocasionando diversos sinais clínicos, como perda progressiva de peso, anemia, lacrimejamento, redução da produção. O conhecimento dos vetores capazes de transmitir a enfermidade, a identificação da presença desses vetores na propriedade e o conhecimento da forma de transmissão são essenciais para conseguir instituir medidas que buscam reduzir a população de agentes transmissores e eliminar o parasita do rebanho. O diagnóstico clínico e laboratorial da enfermidade é importante para confirmar a presença do agente no rebanho e realizar o diagnóstico diferencial com outras enfermidades que acometem os rebanhos da região e tem características clínicas semelhantes. O tratamento adequado e as medidas sanitárias instituídas são ferramentas que utilizadas de forma correta conseguem um resultado satisfatório, impedindo a progressão e eliminando o agente.

É importante que médicos veterinários e criadores identifiquem os sinais clínicos e compreendam os aspectos epidemiológicos da tripanossomíase, para que sejam estabelecidas medidas adequadas de diagnóstico, controle e profilaxia da enfermidade e reduzidas as perdas produtivas associadas a tripanossomíase. O diagnóstico das enfermidades que acometem os rebanhos nas diferentes regiões é importante para que sejam delineados controle de vetores de agentes causadores e estabelecimento de calendários de vacinações adequados às realidades de cada região. Esse estudo demonstrou a necessidade de se realizar controle dos vetores da tripanossomíase e incluir no calendário de vacinação da propriedade a utilização da vacina contra leptospirose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, N. F.; MARTINS, G.; MEDEIROS, L.; RIBEIRO, V. M. F. The role of capybaras as carriers of leptospires in periurban and rural áreas in the western Amazon. **Acta Tropica**, January, 2017.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 2, p. 174-181, 2007.

BATISTA, J. S., BEZERRA, F. S. B., LIRA, R. A., CARVALHO, J. R. G., NETO, A. M. R., PETRI, A. A. & TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 63-69. 2008.

BUSCHER, P.; NGOYI, D. M.; KABORE, J.; LEJON, V.; ROBAYS, J.; JAMONNEAU, V.; BEBRONNE, N.; VAN DER VEKEN, W.; BIELER, S. Improved models of mini anion exchange centrifugation technique (mAECT) and modified single centrifugation (MSC) for Sleeping Sickness diagnosis and staging. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 11, p. 471, 2009.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. de A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; TEIXEIRA, M. M.G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 2, p. 118-124, 2012.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PULSSELY, P. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. **Applied Microbiology**, v. 28, p. 976-980, 1973.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE AGRICULTURA - CNA. Análise do PIB das cadeias produtivas de algodão, cana-de-açúcar, soja, pecuária de corte e de leite no Brasil: desenvolvimento metodológico e cálculo do PIB das cadeias produtivas do algodão, cana-de-açúcar, soja, pecuária de corte e de leite no Brasil. Brasília: CNA, 2012. Disponível em: <<http://www.canaldoprodutor.com.br/sites/default/files/pib-cadeias-produtivas-web.pdf>>. Acesso em: 04 novembro 2016.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.; DIAS, M. M. Aborto Bovino por *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.5, p.863-868, 2000.

CUGLOVICI, D. A.; BARTHOLOMEU, D. C.; REIS-CUNHA, J. L.; CARVALHO, A. U.; RIBEIRO, M. F. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 320-326, 2010.

DA SILVA, A. S.; COSTA, M. M.; POLENZ, M. F.; POLENZ, C. H.; TEIXEIRA, M. M. G.; LOPES, S. T. dos ANJOS.; MONTEIRO, S. G. Primeiro registro de *Trypanosoma vivax* em bovinos no estado do Rio Grande do Sul, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009.

DE BRITO, P. D. **Efeito da infecção por *Trypanosoma vivax* sobre a ingestão de alimentos, conversão alimentar, ganho de peso e características de carcaça de ovinos infectados experimentalmente.** Dissertação (mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2011.

GALIZA, G. J. N.; GARCIA, H. A.; ASSIS, A. C. O.; OLIVEIRA, D. M.; PIMENTEL, L. A.; DANTAS, A. F. M.; SIMÕES, S. V. D.; TEIXEIRA, M. M. G.; RIET-CORREA, F. High mortality and lesions of the central nervous system in Trypanosomosis by *Trypanosoma vivax* in Brazilian hair sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 182, p. 359-363, 2011.

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v. 13, p. 81-85, 1965.

GARDINER, P. R.; ASSOKU, R. K. G.; WHITELAW, D. D.; MURRAY, M. Hemorrhagic lesion resulting from *Trypanosoma vivax* infection in ayrshire cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 31, n. 3-4, p. 187-198, 1989.

GRAÇA, D. S. **Surto de Trypanossomose bovina em Minas Gerais.** Artigo técnico. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

GUERRA, R. M. S. N. C.; FEITOSA JUNIOR, A. B.; SANTOS, H. P.; ABREU-SILVA, A. L.; SANTOS, A. C. G. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, p. 833-835, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Anuário estatístico do Brasil. Rio de Janeiro: **IBGE**, 2014. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/detalhes.php?id=720>>. Acesso em: 20 outubro 2016.

JONES, T. C. et al. **Patologia Veterinária**. 6 ed. São Paulo: Manole, 2000. P. 1415.

JONES, T. W.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma vivax* – out of Africa. **Trends in Parasitology**, v. 17, n. 2, p. 99-101, 2001.

LABRUNA, M. B.; HOME, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; NETO, J. S. F. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Urará Eastern Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 5, p. 774-779, 2000.

LANGONI, H.; KURIBARA, I. Y.; CORREA, A. P. F.L.; ULLMANN, L. S.; SÁNCHEZ, G. P.; LUCHEIS, S. B. Anti-leptospirosis agglutinins in Brazilian capybaras (*hydrochoerus hydrochaeris*). **Journal of Venomous Animals**, v. 22, n. 4, 2016.

LINHARES, G. F. C., FILHO, F. C. D., FERNANDES, P. R. DUARTE, S. C. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins: relato de caso. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 455-460, 2006.

LOSOS, G. J.; IKEDE, B. O. Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *T. congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodensi* and *T. congolense*. **Veterinary Pathology**, v. 9, p. 267–274. 1972.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; LIMA JÚNIOR, M. S. C.; MELO, E. S. P. Comparação de métodos de extração do DNA e avaliação de reações da polimerase em cadeia (PCR) para o diagnóstico de *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. **Circular Técnico**, **34**, EMBRAPA, Brasília, p. 1-8, 2006.

MAGONA, J. W.; MAYENDE, J. W.; WALUBENGO, J. Comparative evaluation of the antibody-detection ELISA technique using microplates precoated with denatured crude antigens from *Trypanosoma congolense* or *Trypanosoma vivax*. **Tropical Animal Health Production**, v. 34, p. 295- 308, 2002.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Exportação. Brasília: **MAPA**, 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal>>. Acesso em: 20 setembro 2016.

MARTINS, C. F.; MADRUGA, C. R.; KOLLER, W. W.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O.; KESSLER, R. H.; MELO, E. S. P.; RIOS, L. R.; ALMEIDA, R. C. F.; LIMA JUNIOR, M. S. C.; BARROS, A. T. M.; MARQUES, L. C. Trypanosoma vivax infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition área between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 51-56, 2008.

MIASHIRO, A. F. **Prevalência de leptospirose em rebanhos bovinos no Pantanal do Mato Grosso do Sul**. Dissertação – (mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 52 p, 2013.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A.; OSHIRO, A. E.; SALVADOR, S. C.; NAKASATO, L. Ocorrência de Trypanosoma vivax em bovinos do estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 6, p. 349, 1997.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKASATO, L.; BRUM, K. B.; BERNADO, K. C.; MADRUGA, C. R. SCHENK, M. A. Trypanosoma vivax em bovinos no Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 143-148, 2000.

PAIVA, E. de S. **Tripanossomíase por Trypanosoma vivax em pequenos ruminantes: descrição de surtos e infecção experimental da doença**. Dissertação (mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Semiárido, Mossoró, 2009.

PEREGRINE, A. S. Chemotherapy and Delivery Systems: Haemoparasites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 54, p. 223-248, 1994.

PIMENTEL, D. S.; RAMOS, C. A. N.; RAMOS, R. N. A.; ARAÚJO, F. R.; BORBA, M. L.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. First report and molecular characterization of Trypanosoma vivax in cattle from state of Pernambuco, Brasil, **Veterinary Parasitology**, v. 185, p. 286-289, 2012.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1194-1200, 2010.

SALGADO, B. S.; BATTAGLIA, C. T.; STUCHI, R. S.; CADIOLI, F. A.; ROZZA, D. B. What is your diagnosis? Lymphadenopathy in a cow with severe anemia. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n.1, p. 103-104, 2011.

SAMPAIO, P. H. **Resposta imune-humoral e proteinogramas séricos de bovinos naturalmente infectados pelo *Trypanosoma vivax***. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.

SCHENK, M. A. M.; MENDONÇA, C. L.; MADRUGA, C. R.; KOHAYAGAWA, A.; ARAÚJO, F. R. Avaliação clínico-laboratorial de bovinos nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 157-161, 2001.

SERRA-FREIRE, N. M. Oiapoque – outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 30-31, 1981.

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A. da; SCHNEIDER, R. C.; DE FREITAS, J.; MESQUITA, D. P.; MESQUITA, T. C.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; PEREIRA, M. E. B. Bovine Trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in the Northern subregion of Pantanal, Brazil. **Trypnews**, v.2, n.4, p.1-2, 1995.

SILVA, J. A.; SCHNEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D. P.; MESQUITA, T. C.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; PEREIRA, M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 5, p. 561-562, 1996.

SILVA, R. A. M. S.; SILVA, J. A.; FREITAS, J.; MORALES, G.; EULERT, E.; YBANES, R.; MONTENEGRO, A.; DÁVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L. **Tripanossomose bovina por *Trypanosoma vivax* no Brasil e Bolívia: Sintomas clínicos, diagnósticos e dados epizootiológicos**. Campo Grande, Embrapa gado de corte, p. 17, 1997.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, diagnostico e controle**. Corumbá, EMBRAPA, p. 137, 2002

SILVA, R. A. M. S.; SANCHEZ, V.; DÁVILA, A. M. R. Métodos de diagnósticos parasitológicos das tripanossomoses bovinas e equinas. **Circular técnica 41**, EMBRAPA Pantanal, Corumbá, Mato Grosso do Sul, p. 3, 2003.

SILVA, R. A. M. S.; PELLEGRIM, A. O.; LIMA, E. S. S.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. **Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia**. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Corumbá, Brasil, 2004.

SILVEIRA, J. A. G da. **Ocorrência de hemoparasitos e ectoparasitos em veado-catingueiro (*Mazama gouzobira* Fischer, 1814), veado-campeiro (*Ozotocerus bezoarticus* Linneaus, 1758) e cervo-do-pantanal (*Blastoceru dichotomus* Illiger): utilização de métodos parasitológicos e moleculares.** Tese - (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

STEPHEN, L. E. Trypanosomiasis: a veterinary perspective. **Pergamon Press**, New York. 533p. 1986.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A.; TAKEDA, G. F.; BUCK, G. A.; TEIXEIRA, M. M. Trypanosoma vivax: characterization of the spliced-leader gene for a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of na intergenic space sequence. **Exptl Parasitol**, v. 99, p. 37-48, 2001.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifugue technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropica**, v.27, n. 4, p.384-386, 1970.